ПАРАЗИТОЛОГИЯ, XIV, 3, 1980

УДК 576.893.161.13 : 595.71

СЕРОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ КЛОНОВ ЛЕЙШМАНИЙ ОТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО И ЕСТЕСТВЕННО ЗАРАЖЕННЫХ МОСКИТОВ

В. М. Сафьянова, А. Н. Алексеев, М. М. Стеценко

Институт эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР
и Институт медицинской паразитологии и тропической медицины им. Марциновского,
Москва

Проведено сравнительное серологическое изучение (в сопоставлении с эталонными штаммами) клонов лейшманий, выделенных при помощи микроманипулятора Фонбрюна из организма экспериментально и естественно зараженных москитов. Использовался серологический тест Адлера в модификации Сафьяновой. Показано большое разнообразие антигенных свойств клонов от естественно зараженных *Phlebotomus caucasicus* и *Ph. papatasi*, свидетельствующее об их одновременной инвазии разными видами лейшманий. У экспериментально и естественно зараженных *Ph. papatasi* обнаружены клоны со «смешанными» антигенными свойствами (родственные одновременно двум эталонным штаммам лейшманий). Высказывается предположение об обмене генетической информацией между промастиготами лейшманий разных видов при совместном пребывании в кишечнике москита.

Лейшмании, как и другие представители сем. *Trypanosomatidae*, являются агамными организмами. Каких-либо признаков обмена генетической информацией у них до сих пор не было установлено. В соответствии с современным представлением (Майр, 1974) эволюция агамных простейших осуществляется посредством естественного отбора мутантов, появляющихся в их бесполых линиях — клонах. Есть основание предполагать, что в эволюции лейшманий существенное значение может иметь и нехромосомная наследственность, связанная с плазмидами, расщепляющимися в процессе митоза. Известно, что 1% всей ДНК лейшманий локализован в митохондриях и 20% — в кинетопласте (Дубинин, 1976). Самовоспроизведение наследственной информации, закодированной в ДНК кинетопласта и митохондрий, осуществляется непрерывно и независимо от ядерной ДНК. Все это теоретически должно определять достаточно высокий уровень наследственной изменчивости клонов лейшманий.

Возникает предположение о генетической неоднородности штаммов этих паразитов, выделяемых в природе от беспозвоночного или позвоночного хозяина. Можно представить себе любой штамм как своеобразное сообщество чистых линий — клонов, в той или иной мере отличающихся друг от друга по своим свойствам, и, поскольку каждый из них представляет потомство одной материнской клетки, состоящих внутри из генетически идентичных особей.

Помимо наследственной изменчивости клонов, источником гетерогенности природных штаммов лейшманий может явиться смешанное заражение хозяина, т. е. одновременное сосуществование в его организме представителей разных видов рода *Leishmania*. В особенности это касается штаммов, выделяемых от москитов (*Phlebotominae*), поскольку хорошо известна способность этих насекомых повторно, на протяжении одного гонотрофического цикла, пить кровь разных животных. Шансы приобретения москитом лейшманий разного происхождения при этом могут быть достаточно высоки и прямо пропорциональны полифагии данного вида кровососа.

В связи со всем сказанным становится очевидным, что назрела необходимость сравнительного изучения биологических свойств чистых линий — клонов лейшманий. Подобный подход должен обеспечить качественно новый, более высокий уровень характеристики этих паразитов.

В наших предыдущих исследованиях была разработана методика последовательного заражения москитов разными видами лейшманий (Алексеев и др., 1975) и проанализированы результаты получения в экспериментальных условиях смешанной инфекции *Phlebotomus papatasi* двумя видами лейшманий: *L. tropica major* и *L. gymnodactyli* (Сафьянова и др., 1976). Основным критерием, характеризующим как исходные, так и полученные в эксперименте штаммы и субштаммы лейшманий, явились их антигенные свойства, выявляемые посредством серологического теста.

Данная работа является результатом углубленного экспериментального анализа этого исследования: в ней приводятся данные по сравнительному серологическому изучению клонов лейшманий, выделенных от зараженного в лаборатории при моделировании смешанной инфекции москита *Ph. papatasi*.

Следующим этапом в разработке вопроса, которому посвящена настоящая статья, явилось сравнительное изучение антигенных свойств клонов лейшманий, полученных от естественно зараженных *Ph. papatasi* Sc. и *Ph. caucasicus* Marz., отловленных в норах большой песчанки, на территории юго-восточной Туркмении. Оно было предпринято с целью получения информации о степени антигенной неоднородности москитных штаммов лейшманий, имеющей место в природе.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для клонирования нами использованы следующие штаммы лейшманий.

1. Штамм 3—219. Выделен от естественно зараженного *Ph. caucasicus* Сафьяновой и Гуниным в сентябре 1969 г. Москит отловлен в норе большой песчанки (*Rhombomys opimus* Licht), в ландшафте бугристых песков, в 18 км от станции Захмет (Мургабо-Амударьинское междуречье). Перекрестное серологическое сравнение этого штамма с эталонными штаммами лейшманий из музея ИЭМ им. Гамалеи АМН СССР позволило его идентифицировать как *Leishmania donovani*. При экспериментальном заражении золотистых хомяков штамм вызывает у животных клиническую картину заболевания, с ярко выраженной генерализацией инфекции, характерную для *L. donovani*, что соответствует его серологической идентификации (Сафьянова и др., 1975).

2. Штамм 66. Выделен от естественно зараженного *Ph. papatasi* Сафьяновой и Беловой в августе 1964 г., Москит отловлен в норе большой песчанки, расположенной на второй террасе р. Мургаб, близ селения Имамбаба. Серологическую идентификацию штамма осуществить не удалось: со всеми имеющимися в музее эталонными штаммами лейшманий (включая *L. tropica major*, *L. tropica minor*, *L. donovani*, *L. gymnodactyli* и др.) он оказался в антигенном родстве не выше II степени (Сафьянова, 1966). Не заражает лабораторных животных (золотистых хомяков и белых мышей).

С 1976 г. стабилаты 3—219 и 66 хранятся в криобанке ИЭМ им. Гамалеи АМН СССР. До того как они были подвергнуты криопрезервации, штаммы культивировались на двухфазной питательной среде (см. ниже). Для клонирования пользовались культурами штаммов 3—219 и 66 соответственно 37-го и 114-го пересевов.

3. Штамм Ph_{43}. Выделен от самки *Phlebotomus papatasi*, выплодившейся в лаборатории и последовательно, с интервалом в 3 дня, зараженной двумя эталонными штаммами лейшманий: АГ (*L. gymnodactyli* от ящерицы *Agama sanguinolenta*) и 4Ю (человеческий штамм *L. tropica major*), резко различающимися друг от друга по своим антигенным свойствам. Штаммы находились по отношению друг к другу в IV степени антигенного родства. Москит был накормлен через капилляр на аппарате Алексеева (1965). Субштамм Ph_{43} выделен на 6-й день после первого заражающего кормления.

Серологическое изучение субштамма выявило его смешанную природу: высокую степень антигенного родства с обоими исходными эталонными штаммами (Сафьянова и др., 1976).

Кроме вышеупомянутых штаммов 4Ю и АГ, мы использовали в качестве эталонов следующие штаммы из криобанка ИЭМ им. Гамалеи АМН СССР: ВЛ — *L. donovani* от больного висцеральным лейшманиозом ребенка из Туркменской ССР; VII — *L. tropica major* от человека больного зоонозным кожным лейшманиозом, также из Туркмении; L. p. — *Leptomonas pessoai*, моноксенический жгутиконосец из кишечника клопа *Zelus leucogrammus* (получен нами из музея Лондонской школы тропической медицины и гигиены, благодаря любезности профессора Ламсдена. Культивируется в ИЭМ им. Гамалеи с 1973 г.). Клонирование штаммов лейшманий осуществлялось при помощи микроманипулятора Фонбрюна. Метод клонирования подробно описан в одной из наших предыдущих работ (Алексеев и Сафьянова, 1977). Вкратце он заключается в изолировании материнской клетки клона из культуры промастигот лейшманий при помощи стеклянной петли диаметром около 20 мкм. Захват клетки и ее перемещение в каплю жидкой фазы питательной среды осуществляется под микроскопом, в специальной камере, заполненной вазелиновым маслом, что обеспечивает контроль чистоты клона. Капля, содержащая выделенную из культуры промастиготу, сразу же отсасывается оттянутой в капилляр пастеровской пипеткой и переносится в пробирку с двухфазной средой, [1] на которой выращивается клон.

Для серологического изучения клонов лейшманий, их сопоставления друг с другом и с эталонными штаммами этих паразитов был применен тест Адлера в модификации Сафьяновой. Подробное описание модифицированного теста также содержится в наших прежних публикациях (Сафьянова, 1966; Сафьянова и Алиев, 1971). Модификация обеспечивает количественную оценку результатов серологического теста посредством балльной системы, установленной в соответствии с титрами антител иммунных сывороток кроликов. При сопоставлении суммарных баллов гомологичных и гетерологичных опытов выявляется процент антигенного родства изучаемых штаммов лейшманий (суммарный балл гомологичного опыта принимается за 100%).

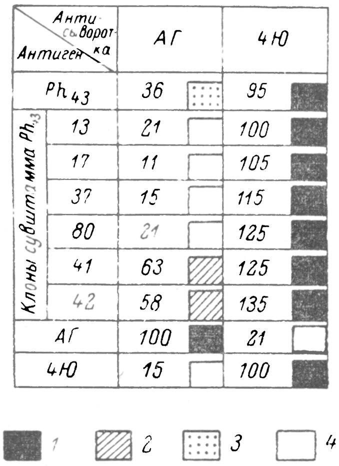
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

I. Изучение клонов лейшманий от экспериментально зараженного *Phlebotomus papatasi*. Из субштамма Ph_{43}, выделенного от *Ph. papatasi*, зараженного в эксперименте двумя видами лейшманий, мы получили 6 клонов этих паразитов, фигурирующих под № 13, 17, 37, 80, 41 и 42. На рис. 1 показаны результаты серологического сопоставления этих клонов, а также субштамма Ph_{43} с исходными эталонными штаммами лейшманий: АГ (*L. gymnodactyli*) и 4Ю (*L. tropica major*). Как видно из рис. 1, эталонные штаммы лейшманий резко отличались друг от друга в антигенном отношении (IV степень антигенного родства, по нашей условной градации). Москитный субштамм Ph_{43} показал достаточно явно свою смешанную природу, так как выявился вдвое более высокий процент совпадения суммарного балла гомологичного и гетерологичного опыта с этим субштаммом на сыворотке анти-АГ, по сравнению со штаммом 4Ю на той же антисыворотке. Вместе с тем на сыворотке анти-4Ю Ph_{43} дал 95% совпадения баллов (I степень антигенного родства). На основании этих данных можно было предполагать, что Ph_{43} представляет собой смесь двух видов лейшманий.

Однако результаты серологического изучения клонов этого субштамма были несколько неожиданными: 4 из них (№ 13, 17, 37 и 80) оказались серологически идентичными штамму 4Ю (I степень родства), но два остальных (№ 41 и 42), к нашему удивлению, проявили «смешанные» антигенные свойства, аналогичные исходному субштамму Ph_{43}. Тот факт, что нам не удалось получить клоны, серологически идентичные эталонному штамму АГ, можно было объяснить либо случайностью, либо их меньшим числом в смешанной культуре. Однако, откуда же взялись клоны со «смешанными» свойствами, антигенно близкие сразу двум эталонам? Несмотря на заведомую точность примененного нами метода, была предпринята (в целях исключения какой-либо случайной ошибки) работа по повторному клонированию «загадочных» клонов № 41 и 42. Первый из них послужил источником выделения 3, а второй — 4 вторичных клонов. Как видно из рис. 2, при серологическом изучении вторичных клонов (№ 370, . . ., 387) были получены данные, полностью подтверждающие результаты опытов с клонами № 41 и 42. Все вторичные клоны вели себя в отношении антисывороток АГ и 4Ю аналогично исходным клонам № 41 и 42. Подсчет средней величины процента совпадения суммарных баллов гетерологичного и гомологичного опытов дал для дочерних № 41 клонов величины 61.6 и 91.6, а дочерних № 42 — 58.7 и 97.5, что практически не отличается от величин, полученных с исходными клонами.

---

[1] Кровяной NNN — агар с обогащающей жидкостью, приготовленной по рецепту Кузнецовой (1952).

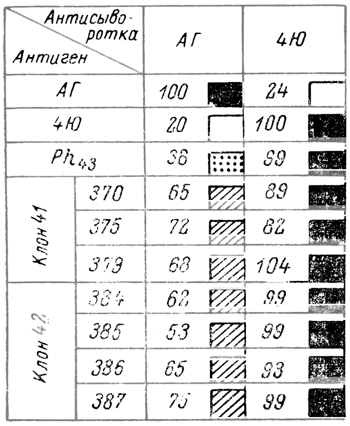


Антисыворотка / Антиген		АГ		4Ю	
Ph_{43}		36	░	95	■
Клоны субштамма Ph_{43}	13	21	□	100	■
	17	11	□	105	■
	37	15	□	115	■
	80	21	□	125	■
	41	63	▨	125	■
	42	58	▨	135	■
АГ		100	■	21	□
4Ю		15	□	100	■

■ 1 ▨ 2 ░ 3 □ 4

Рис. 1. Серологическое изучение клонов субштамма Ph_{43} (процент совпадения суммарных баллов гетерологичного и гамологичного опытов).

Степень антигенного родства: *1* — I степень (выше 75%), *2* — II (51—75%), *3* — III (26—50%), *4* — IV степень (до 26%).



Антисыворотка / Антиген		АГ		4Ю	
АГ		100	■	24	□
4Ю		20	□	100	■
Ph_{43}		38	░	99	■
Клон 41	370	65	▨	89	■
	375	72	▨	82	■
	379	68	▨	104	■
Клон 42	384	62	▨	99	■
	385	53	▨	99	■
	386	65	▨	93	■
	387	75	▨	99	■

Рис. 2. Серологическое изучение вторичных клонов субштамма Ph_{43}.

Обозначения такие же, как и на рис. 1.

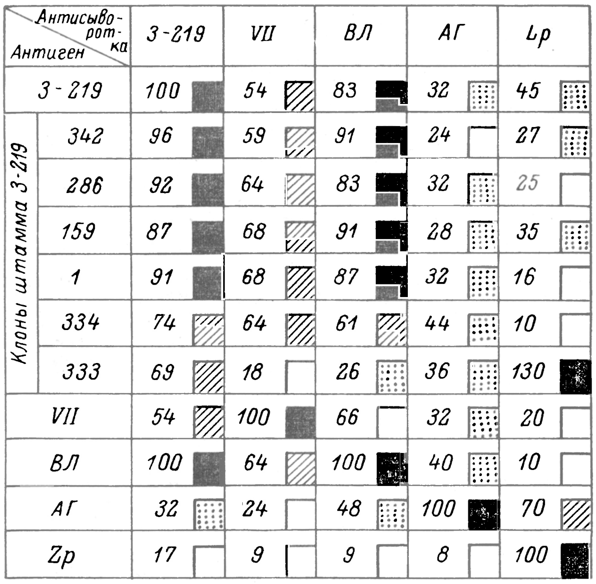
Возникает вопрос: откуда в субштамме Ph_{43}, который теоретически должен был бы состоять из промастигот *L. tropica major* и *L. gymnodactyli*, появились клоны со «смешанными» антигенными свойствами, не идентичные ни одному из видов лейшманий, примененных для заражения москита? Спонтанное носительство москитом каких-либо жгутиконосцев исключается, так как использованная в опытах культура *Phlebotomus papatasi* подвергалась предварительной проверке на естественную зараженность простейшими. Представляется возможным высказать две гипотезы о причинах нахождения «загадочных» клонов.

1) Антигенная неоднородность популяций промастигот исходных эталонных штаммов АГ и 4Ю.

2) Взаимодействие штаммов АГ и 4Ю при их совместном пребывании в кишечнике москита, в результате которого возникают клоны со смешанными антигенными свойствами.

Обе гипотезы требуют экспериментальной проверки. Необходима дальнейшая разработка вопроса. В частности, следует заняться клонированием штаммов лейшманий, выделенных от позвоночного хозяина и серологическим изучением этих клонов.

Нельзя не отметить, однако, что практика нашей работы со штаммами лейшманий, полученными от позвоночных животных (рептилий, млекопитающих) и человека, говорит в пользу их антигенной однородности. При использовании этих штаммов в перекрестных серологических опытах нам всегда удавалось получить четкий однозначный ответ, позволяющий отнести их к определенному серотипу лейшманий. Мы ни разу не наблюдали у штаммов, полученных от позвоночных, «смешанных» серологических характеристик, подобных тем, которые были выявлены у москитного субштамма Ph_{43}. Поэтому в настоящий момент мы склонны отдать некоторое предпочтение второй гипотезе, т. е. считаем возможным обмен генетической информацией у клеток, полученных из кишечника москитов со смешанным заражением.



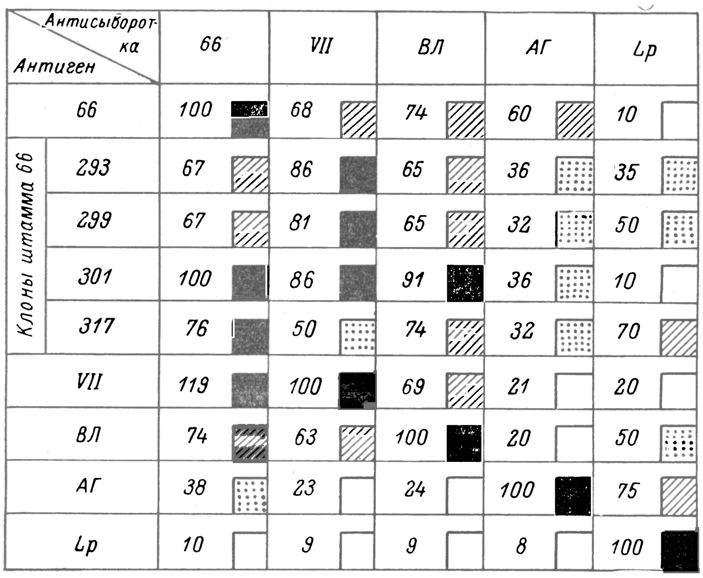
Антисыворотка / Антиген		3-219	VII	ВЛ	АГ	Lp
3-219		100 ■	54 ▨	83 ▙	32 ░	45 ░
Клоны штамма 3-219	342	96 ■	59 ▨	91 ▙	24 □	27 ░
	286	92 ■	64 ▨	83 ▙	32 ░	25 □
	159	87 ■	68 ▨	91 ▙	28 ░	35 ░
	1	91 ■	68 ▨	87 ▙	32 ░	16 □
	334	74 ▨	64 ▨	61 ▨	44 ░	10 □
	333	69 ▨	18 □	26 ░	36 ░	130 ■
VII		54 ▨	100 ■	66 □	32 ░	20 □
ВЛ		100 ■	64 ▨	100 ■	40 ░	10 □
АГ		32 ░	24 □	48 ░	100 ■	70 ▨
Zp		17 □	9 □	9 □	8 □	100 ■

Рис. 3. Серологическое изучение клонов штамма 3—219.

Обозначения такие же, как и на рис. 1.

II. Изучение клонов лейшманий от естественно зараженных *Ph. caucasicus* Marz. и *Ph. papatasi* Sc. Из штамма 3—219 (от *Ph. caucasicus*), идентифицированного как *Leishmania donovani*, получены 6 клонов: № 1, 159, 286, 333, 334 и 342. Результаты их серологического сравнения с 4 эталонными штаммами лейшманий, относящимися к этому и 3 другим видам трипанозомовых, представлены на рис. 3. Как видно из рис. 3, большинство клонов (№ 342, 286, 159, 1) проявили I степень антигенного родства с *L. donovani* (штамм ВЛ) и II — с *L. tropica major* (штамм VII), что в общем соответствовало серологической характеристике исходного москитного штамма 3—219. Однако с клонами № 333 и 334 получены принципиально иные результаты. Оба они обнаружили лишь II степень антигенного родства с исходным штаммом. Клон № 333 оказался близко родственным моноксеническому жгутиконосцу клопа — *Leptomonas pessoai* (I степень родства) и одновременно достаточно далеко отстоящим от всех эталонных штаммов лейшманий позвоночных. На наш взгляд, факт нахождения клона с такой серологической характеристикой может свидетельствовать об одновременном естественном носительстве москитом *Ph. caucasicus* жгутиконосцев разной природы: промастигот *L. donovani* и представителей рода *Leptomonas* (по-видимому, моноксенических симбионтов москита). Клон № 334 серологически идентифицировать не удалось, так как со всеми эталонными штаммами он проявлял антигенное родство не выше II степени.

Сложная картина была получена и при исследовании 4 клонов штамма 66 от естественно зараженного *Phlebotomus papatasi* (рис. 4). 2 клона (№ 293 и 299) обнаружили I степень антигенного родства с эталонным штаммом *L. tropica major* (VII), II — с *L. donovani* (ВЛ), а степень их родства со штаммом рептильных лейшманий (АГ) и *Leptomonas pessoai* была относительно невелика (III). Можно думать, что эти клоны выросли из промастигот *L. tropica major*, попавших в кишечник москита при кровососании на больном зоонозным кожным лейшманиозом человеке или животном. Клон № 317 не проявил I степени антигенного родства ни с одним из примененных в опыте эталонов лейшманий, его природа осталась неизвестной. Но наиболее странно вел себя клон № 301, который показал I степень антигенного родства сразу с двумя эталонными штаммами: VII и ВЛ, т. е. и с *L. tropica major* и с *L. donovani*. Не имел ли здесь места тот же феномен «взаимного воздействия» (обмена генетической информацией?) промастигот различной природы при их совместном пребывании в кишечнике москита, с которым мы столкнулись при лабораторном моделировании смешанной инфекции?



Антиген \ Антисыворотка		66	VII	ВЛ	АГ	Lp
66		100 ■	68 ▨	74 ▨	60 ▨	10 □
Клоны штамма 66	293	67 ▨	86 ▓	65 ▨	36 ░	35 ░
	299	67 ▨	81 ▓	65 ▨	32 ░	50 ░
	301	100 ▓	86 ▓	91 ■	36 ░	10 □
	317	76 ▓	50 ░	74 ▨	32 ░	70 ▨
VII		119 ▓	100 ■	69 ▨	21 □	20 □
ВЛ		74 ▨	63 ▨	100 ■	20 □	50 ░
АГ		38 ░	23 □	24 □	100 ■	75 ▨
Lp		10 □	9 □	9 □	8 □	100 ■

Рис. 4. Серологическое изучение клонов штамма 66.

Обозначения такие же, как и на рис. 1.

Характерно, что москитный штамм 66 в целом не удалось идентифицировать ни с одним из эталонных штаммов. Результаты клонирования показали смешанную природу этого штамма и тем самым трудности, связанные с его серологической идентификацией, получили свое объяснение.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование показало гетерогенность москитных штаммов лейшманий, судя по разнообразию антигенных свойств выделяемых от них клонов. Чем объясняется этот феномен?

Учитывая разнообразие источников питания москитов, можно предполагать, что в природе достаточно широко распространено смешанное заражение этих кровососов и одновременное обитание в их кишечнике разных видов лейшманий как млекопитающих, так и рептилий, а также родственных лейшманиям трипанозомовых. Такую возможность подтвердило успешное моделирование смешанной инфекции *Ph. papatasi* 2 видами лейшманий (*L. tropica major* и *L. gymnodactyli*), осуществленное в наших экспериментах. По-видимому, при смешанной инфекции разные виды лейшманий занимают в кишечнике москита свойственные им экологические ниши. Вместе с тем факты обнаружения у экспериментально и естественно зараженных москитов клонов со смешанными антигенными свойствами требуют специального изучения.

Выше было высказано предположение, что такие клоны возникают в результате взаимодействия промастигот различных видов лейшманий при их совместном пребывании в кишечнике москита (в результате смешанного заражения). О природе такого взаимодействия пока можно только догадываться. Не имеет ли здесь места обмен нехромосомной генетической информацией с использованием плазмид? Этот феномен нередко наблюдается у бактерий. Например, полученные в эксперименте плазмиды — химеры из кишечной палочки и золотистого стафилококка обладали способностью проникать в клетки кишечной палочки из нормальной культуры и трансформировать ее свойства: палочка приобретала новый, передающийся по наследству признак устойчивости к пенициллину (Трифонов, 1975). Известно, что донорская ДНК плазмид бактерий способна освобождаться от клеток донора при их лизисе и поглощаться реципиентом, в качестве которого могут выступать не только бактерии других видов, но и клетки высших организмов (Гольдфарб, 1976).

Согласно гипотезе В. М. Жданова и Т. И. Тихоненко, между организмами различного систематического положения (видами или более крупными таксонами) может иметь место обмен фрагментами ДНК, осуществляемый вирусами при их проникновении в клетку хозяина. Обнаружены особые образования — псевдовирионы, состоящие из вирусной белковой оболочки, включающей в себя ДНК хозяина. Псевдовирионы способны проникать в клетки хозяина другого вида, изменяя при этом его геном (Кесарев, 1976). Примечательно, что при электронно-микроскопическом изучении промастигот *L. hertigi* в цитоплазме клеток были выявлены вирусоподобные частицы диаметром 55—60 нм, состоящие из светлой оболочки и электронноплотного внутреннего содержимого (Molyneux, 1974). На некоторых из микрофотографий, приведенных в этой работе, агрегаты вирусоподобных частиц плотно соприкасаются с кинетоипластом лейшмании, в котором видна спиральная нить ДНК. Можно предположить, что один из вышеописанных процессов имеет место в кишечнике москитов при совместном пребывании в нем лейшманий различных видов.

Данная работа — лишь начало серологического изучения клонов лейшманий. Результаты исследования поднимают много вопросов. В частности, необходимо выяснить степень антигенной неоднородности клонов в организме позвоночного животного. Весьма важно установить, в какой мере антигенные свойства клонов коррелируют с их вирулентностью для позвоночных животных и человека. Наконец, остается полностью открытым вопрос антигенной изменчивости лейшманий во времени, в процессе жизненного цикла и особенно при их пребывании в организме москита.

Исследования в этих направлениях — дело будущего. Можно надеяться, что они прольют дополнительный свет на факты и наблюдения, изложенные в этой статье, и позволят дать более глубокую их трактовку.

Литература

Алексеев А. Н. 1965. Принудительное дозированное кормление насекомых. — Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 4 : 467—471.

Алексеев А. Н., Сафьянова В. М., Карапетьян А. Б. 1975. О жизнеспособности москитов (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) под влиянием заражения промастиготами различных видов лейшманий. — Паразитология, 9 (3) : 271—277.

Алексеев А. Н., Сафьянова В. М. 1977. Клонирование лейшманий на стадии промастиготы с помощью микроманипулятора Фонбрюна. — Паразитология, 11 (2) : 158—161.

Гольдфарб Д. М. 1976. Бактериальные плазмиды, или генная инженерия, в природе. — Природа, 1 : 18—26.

Дубинин Н. П. 1976. Общая генетика, М., «Наука» : 1—590.

Кесарев А. 1976. Вирусы — посредники и ДНК — путешественница. — Химия и жизнь, 5 : 51—52.

Кузнецова А. А. 1952. Устойчивость лейшманий к шютеллированию. — Изв. АН ТССР, 6 : 73—75.

Майр Э. 1974. Популяции, виды и эволюция. М., «Мир» : 1—460.

Сафьянова В. М. 1966. Серологическое сравнение штаммов лептомонад, выделенных от москитов, с Leishmania tropica с лептомонадами рептилий. — Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 6 : 686—696.

Сафьянова В. М., Алиев Э. И. 1971. К методам оценки степени антигенного родства различных штаммов лейшманий. — Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 3 : 315—321.

Сафьянова В. М., Алексеев А. Н., Карапетьян А. Б. 1976. Судьба промастигот Leishmania tropica major и L. gymnodactyli в организме Ph. papatasi в условиях смешанной инфекции. — Паразитология, 10 (1) : 78—84.

Сафьянова В. М., Емельянова Л. П., Гунин П. Д. 1975. Биологические свойства штаммов лейшманий, выделенных от москитов группы Phlebotomus caucasicus на территории Мургабо-Амударьинского междуречья. — Мед. паразитол. и паразитарн. болезни, 5 : 565—573.

Трифонов Э. Н. 1975. Тревога в генной инженерии. — Химия и жизнь, 1 : 16—19.

Molyneux D. H. 1974. Virus-like particles in Leishmania parasites. — Nature, 249, (5457) : 588—589.

SEROLOGICAL STUDY OF LEISHMANIA CLONES FROM EXPERIMENTALLY AND NATURALLY INFECTED SAND FLIES

V. M. Safjanova, A. N. Alekseev, M. M. Stetzenko

SUMMARY

A serological study of *Leishmania* clones from experimentally and naturally infected sand flies was undertaken. The cloning was done by means of Fonbrun's micromanipulator. Serological studies were conducted according to Adler's method in Safjanova's modification. Among the clones of *Phlebotomus papatasi* experimentally infected with *Leishmania tropica major* and *L. gymnodactyli* four were found to be serologically identical with *L. tropica major*, and two had close antigene relationships with both initial strains of *Leishmania*. No clones identical with *L. gymnodactyli* were found.

By means of serological comparison to museum strains of *Leishmania* heterogeneity of the strains isolated from naturally infected sand flies and great variety of antigenic properties of clones obtained from them have been shown. Thus, among clones of *Ph. caucasicus* four are identical with *L. donovani*, one is closely related to *Leptomonas pessoai* and one displays no antigenic relationships to any standard strain of *Leishmania*. Two clones from naturally infected *Ph. papatasi* are identical with *L. tropica major*, one displays close antigenic relationships with *L. tropica major* and *L. donovani* and one could not be identified. The question is raised on the necessity to study possible mechanisms of genetic information exchange to explain the appearance of clones with mixed properties.